UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

ANNÉE 1933-34 N° 113

RECHERCHES
SUR
L'ACTION DES DIVERS DÉFÉCANTS

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le Juin 1934
à la FACULTÉ DE PHARMACIE de STRASBOURG
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université
(Mention Pharmacie)

par

PAJA BOCHNER
PHARMACIEN
Diplômée du Certificat d'Analyse de
Produits Alimentaires et Biologiques

EXAMINATEURS DE LA THÈSE
MM. LOBSTEIN, Professeur, *Président*
JADIN, Professeur } *Juges*
LAPP, Chargé de Cours }

STRASBOURG
HEITZ & CIE. - IMPRIMERIE UNIVERSITAIRE
1934

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

ANNÉE 1933-34 N° 113

RECHERCHES
SUR
L'ACTION DES DIVERS DÉFÉCANTS

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le Juin 1934
à la FACULTÉ DE PHARMACIE de STRASBOURG
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université
(Mention Pharmacie)

par

PAJA BOCHNER
PHARMACIEN
Diplômée du Certificat d'Analyse de
Produits Alimentaires et Biologiques

EXAMINATEURS DE LA THÈSE : MM. LOBSTEIN, Professeur, *Président*; JADIN, Professeur; LAPP, Chargé de Cours — *Juges*

STRASBOURG
HEITZ & CIE. - IMPRIMERIE UNIVERSITAIRE
1934

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. LOBSTEIN, Doyen, ✻, ⚚, I ✪, ✪.
A. SARTORY, Assesseur, C. ✻, I ✪, C. ✪.
CUVIER, Secrétaire. A ✪.

DOYEN HONORAIRE

M. JADIN, O. ✻, I ✪, ✪.

PROFESSEURS

MM.	A. SARTORY, C. ✻, I ✪, C. ✪	Bactériologie.
	LAVIALLE, I ✪, ✪	Botanique.
	VOLMAR, I ✪	Chimie organique.
	LOBSTEIN, ✻, ✪, I ✪, ⚚	Matière médicale.
	GUILLAUME, ✻, ⚚, I ✪	Pharmacie galénique.
	PASTUREAU, O. ✻, I. ✪	Pharmacie chimique.
	LAPP, A. ✪, Chargé du Cours ..	Chimie analytique.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. BRAEMER, ✻, I ✪, O. ✪
JADIN, O. ✻, I ✪, ✪

CHARGÉ DE FONCTIONS D'AGRÉGÉ

M. R. SARTORY, ✪

COURS COMPLÉMENTAIRES

MM.	VOLMAR, I ✪	Chimie minérale.
	LOBSTEIN, ✻, ✪, I ✪, ⚚	Hydrologie et Hygiène.
	GUILLAUME, ✻, ⚚, I ✪	Zoologie.
	EISENMANN	Législation et Déontologie.
	R. SARTORY, ✪	Cryptogamie
	LAPP, A ✪	Physique.
	COLLARD, I ✪, ⚚	Toxicologie.
M^e^	LALLEMAND	Chimie biologique.

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM.	R. SARTORY, ✪	Chimie et Physique.
	LAPP, A ✪	Bactériologie et Parasitologie.
	COLLARD, I ✪, ⚚	Chimie pharmaceutique.
	BOHN, A ✪	Histoire naturelle.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A mon cher Maître
et
Président de Thèse,

Monsieur le Professeur LOBSTEIN

Doyen de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
Chevalier de la Légion d'Honneur

Témoignage de respectueuse reconnaissance

et aux Membres de mon Jury,

Monsieur le Professeur JADIN

Doyen Honoraire de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Officier de la Légion d'Honneur

Monsieur LAPP

Chargé de Cours à la Faculté

A la mémoire de mon Père

A ma Mère

A mon Fiancé

A ma Sœur et mes Frères

et à tous ceux qui me sont chers

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548008_0055

INTRODUCTION

On n'effectue aucune recherche qualitative ou quantitative d'hydrates de carbone dans un liquide sans en avoir éliminé, par l'emploi d'un défécant, aussi parfaitement que possible, toutes les substances étrangères capables d'imiter ou de troubler les réactions de ces hydrates de carbone. Une telle défécation s'impose aussi, et plus rigoureuse encore, pour l'examen polarimétrique, car il est nécessaire d'avoir un liquide incolore, limpide, privé de matières albuminoïdes.

D'ailleurs des défécants peuvent être employés également pour des liquides non sucrés en vue de dosage que gênerait la présence de protides ou de matières colorantes.

De nombreux réactifs ont été proposés dans ce but. Le plus couramment employé et le plus simple est le sous-acétate de plomb ou encore l'acétate neutre, mais beaucoup d'autres défécants ont été recommandés: acétate, nitrate et sulfate de mercure, acétate de zinc, métaphosphate et tungstate de soude, ferrocyanure de cuivre, ferrocyanure de zinc et de potassium, acides phospho- et silicotungstiques, acide trichloacétique, réactif citro-picrique d'Esbach, etc...

La multiplicité des défécants ainsi préconisés laisse à penser qu'aucun d'eux n'est parfait, soit que la défécation demeure incomplète, soit que les hydrates de carbone ou autres corps à doser risquent d'être altérés ou partiellement retenus.

Il nous a paru intéressant d'étudier comparativement les principales méthodes usitées, afin d'établir leurs valeurs respectives au point de vue de la précision du dosage. C'est l'objet du présent travail.

Dans le premier chapitre nous indiquons la composition des divers défécants employés, et chacun des chapitres suivants est consacré à l'étude des résultats qu'ils donnent dans la défécation d'un liquide albumino-glucosé, de l'urine, du vin, du lait, du sang, d'un liquide extractif de drogue à glucoside, et enfin d'une solution d'acide aminé.

Ces recherches ont été effectuées d'après les indications et sous la direction de M. le Professeur LOBSTEIN, Doyen de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg. Nous tenons à lui exprimer notre particulière reconnaissance pour l'aimable accueil que nous avons reçu dans son laboratoire et pour les conseils qu'il nous a si largement prodigués, disciplinant nos efforts et développant en nous l'esprit de méthode et la précision.

A lui, comme à M. le Doyen honoraire JADIN, qui veut bien nous faire l'honneur et le plaisir d'être notre juge dans ce dernier acte de notre scolarité, notre gratitude demeure à jamais acquise pour l'intérêt qu'ils ont toujours porté aux étudiants étrangers venus s'instruire à la belle Faculté de Strasbourg.

Nous remercions également M. LAPP, Chargé de Cours, qui avec une si grande cordialité nous a guidée aux travaux pratiques et instruite en analyses, et que nous sommes heureuse d'avoir dans notre jury de thèse.

Merci aussi à M. TISCHMACHER, Assistant du Laboratoire, pour son aide quotidienne et sa constante obligeance.

Et que tous les Maîtres qui, pendant nos trois années d'études pharmaceutiques, nous ont avec tant de bienveillance dispensé leurs enseignements, soient assurés de nos sentiments profondément reconnaissants.

CHAPITRE PREMIER

DEFECANTS EMPLOYES

Voici les divers défécants que nous avons employés dans nos recherches:

Acétate neutre de plomb. — (Réactif de COURTONNE.)

Acétate neutre de plomb	30 gr.
Eau distillée q. s. p.	100 cc.

Acide acétique q. s. pour avoir une réaction neutre au tournesol.

Dans le liquide déféqué, l'excès de plomb peut être éliminé par le carbonate ou le sulfate de soude.

Sous-acétate de plomb liquide. — (Extrait de Saturne.)

C'est l'acétate basique dissous, de densité 1,32, tel qu'il est inscrit dans la Pharmacopée et qui est préparé avec:

Acétate neutre de plomb	300 gr.
Poudre d'oxyde de plomb fondu	100 gr.
Eau distillée	700 gr.

La réaction est fortement alcaline.

L'extrait de Saturne est le défécant le plus anciennement employé, mais il a l'inconvénient, signalé dès 1861 par BENU-JONES et indiqué depuis par bien des auteurs, d'entraîner une partie du sucre en milieu neutre et davantage en milieu alcalin. D'autre part il ne précipite pas tous les corps optiquement actifs autres que le glucose, en particulier des substances lévogyres; il ne précipite pas les albumoses et peptones, et non plus la cérabine qui est la partie soluble de la Gomme nostras (Gomme des Rosacées), mais, par contre, il précipite les gommes du groupe arabique qui ne sont pas précipitées par l'acétate neutre de plomb. Le sous-acétate de plomb ammoniacal élimine aussi les conjugués glycuroniques qui ne sont précipités ni par l'acétate neutre, ni même par le réactif de PATEIN-DUFAU.

D'une façon générale les sels de plomb laissent toujours passer une certaine quantité d'albuminoïdes et d'autres corps dont l'activité optique n'est pas négligeable, et par là même conviennent mal pour les dosages polarimétriques.

En outre il est fréquent que les solutions, obtenues limpides aussitôt après la défécation par les sels de plomb, se troublent assez vite par suite d'excès de plomb en solution instable, malgré les additions opérées pour le précipiter.

Acétate mercurique.

Acétate mercurique ..... 10 gr.
dissoudre à chaud dans le mélange:
Eau distillée ..... 200 cc.
Acide acétique ..... 2 cc.

Précipite incomplètement les gommes et les pectines.

Nitrate mercurique. — (Réactif de PATEIN-DUFAU.)

Acide nitrique (D: 1,39) ..... 80 cc.
Oxyde rouge de mercure ..... 110 gr. (ajoutés en remuant vivement pour éviter la formation de grumeaux);

après 5 à 6 minutes d'agitation, ajouter :

Eau distillée ..... 80 cc.

Porter à l'ébullition. Après dissolution totale de l'oxyde, laisser refroidir et verser dans une éprouvette de 500 cc., ajouter en filet mince, en agitant :

Soude au 1/10e ..... 20 cc.

compléter à 500 cc. avec de l'eau distillée. Filtrer.

Pour le dosage avec la liqueur cupro-alcaline, il convient de débarrasser le liquide déféqué du mercure qui serait précipité en même temps que l'oxydule de cuivre et gênerait le dosage. Cette élimination se fait en ajoutant au liquide du zinc pulvérisé (dans la proportion de 2 grammes pour 50 cc.) et agitant de temps en temps pendant 2 à 3 heures (on s'assure que la précipitation du mercure est complète en déposant une goutte du liquide sur une lame de cuivre fraîchement décapée : il ne doit pas se produire de tache grise au contact de la goutte). On filtre et alcalinise avec de la lessive de soude pour redissoudre l'oxyde de zinc qui se précipite.

Le réactif de PATEIN-DUFAU est considéré comme le meilleur agent de défécation : il précipite non seulement l'albumine et les peptones, mais l'acide urique, les urates, la créatinine ; toutefois il ne précipite pas les composés glycuroniques. Il est préconisé en particulier pour déféquer le sang.

Sulfate acide de mercure. — (Réactif de DENIGES.)

Oxyde rouge de mercure ..... 10 gr.
Acide sulfurique ..... 40 cc.
Eau distillée ..... 200 cc.

mélanger l'acide et l'eau dans un matras et, sans refroidir, ajouter l'oxyde mercurique en agitant.

La solution sulfurique de sulfate mercurique assure une élimination presque totale des gommes et des pectines. Elle est recommandée par G. BERTRAND pour le dosage du lactose

dans le lait, par FLEURY pour le dosage du glucose urinaire, par SEMICHON et FLANZY dans tout liquide sucré, moût, vin, toutefois ces derniers auteurs rappellent que, par son acidité minérale, ce réactif peut exercer une action sensible sur les sels hydrolysables et ne saurait être employé sans réserve en présence de ces derniers. LABORDE le préconise pour déféquer et décolorer les vins.

Dans le liquide déféqué, le mercure est éliminé par agitation avec un peu de poudre de zinc.

WEST, SCHARLES et PETERSON, pour le dosage du sucre dans le sang, ont préféré le sulfate mercurique au réactif de Patein; ils ajoutent au filtrat du carbonate de baryum qui élimine à la fois le sulfate et le mercure, et les traces restantes de baryum et de mercure sont enlevées par le sulfate de soude et la poudre de zinc.

Acétate de zinc.

Solution aqueuse au 1/10e.

Métaphosphate de soude (ou acide métaphosphorique).

Solution aqueuse à 5 ou 10 p. 100.

Employé en particulier pour déféquer le sang.

Tungstate de soude (ou acide tungstique).

Solution acqueuse au 1/10e.

Employé principalement pour déféquer le sang (utilisé par POULAT, MARICO, et dans la méthode de FOLIN-WU).

Acide phosphotungstique.

Phosphotungstate de soude	25 gr.
Acide chlorhydrique concentré	5 cc.
Eau distillée q. s. p.	250 cc.

Les albumoses et les peptones sont mieux déféquées par le réactif phosphotungstique que par l'acétate de plomb.

Ferrocyanure double de potassium et de zinc. — (Réactif de CARREZ.)

C'est l'agent indiqué par CARREZ pour déféquer le lait: dans une fiole jaugée de 100 cc., il met:

Lait	10 cc.
Eau	50 cc.
Ferrocyanure de potassium à 10 %	3 cc.
Acétate de zinc à 30 %	2 cc.
Phénolphtaléine	1 goutte
Lessive de soude au 1/10e: q. s. p. faible coloration rose	
Eau distillée q. s. p.	100 cc.

Ce sel double a été employé également par THIERY comme agent de défécation du sang. Il comporte alors:

une solution A: Ferrocyanure de potassium anhydre 150 gr.
Eau distillée q. s. p. ..... 1000 gr.
et une solution B: Acétate de zinc anhydre ..... 112 gr.
Eau distillée q. s. p. ..... 1000 gr.

et THIERRY donne le mode d'emploi suivant:

Dans une éprouvette de 50 cc. mesurer successivement:

plasma	5 cc.
eau distillée	5 cc.
agiter et ajouter: acide acétique crist.	11 gouttes
puis Solution A	2 cc.
agiter et ajouter Solution B	2 cc.

mélanger et compléter à 50 cc. avec de l'eau distillée. Jeter sur un filtre assez grand pour recevoir la totalité du mélange. Le filtrat (représentant un dilution au 1/10e) est limpide et incolore et se prête parfaitement au dosage du glucose.

Ferrocyanure de cuivre colloïdal.

L'emploi de ce défécant est préconisé par BELTRAN, de l'Institut Agricole d'Alger. D'après cet auteur, la clarification des liquides d'épuisement ou de diffusion des substances végé-

tales renfermant des sucres s'obtient d'une façon remarquable en floculant ces hydrosols par le ferrocyanure de cuivre colloïdal, et il ajoute que le mode d'action de ce dernier ne semble pas se localiser aux matières végétales sucrées, mais paraît devoir s'appliquer à tous les liquides troubles d'industries agricoles provenant de traitements par l'eau, ainsi qu'à certains liquides organiques comme l'urine.

Le mode opératoire indiqué par BELTRAN est assez vague, le voici :

« On ajoute successivement au liquide du ferrocyanure de potassium et goutte à goutte de l'acétate de cuivre. On agite vivement, on centrifuge. A défaut de centrifugeuse, on filtre à la trompe sur creuset de Gooch. Les filtrats sont incolores ou bleus s'il y a excès de cuivre : dans ce cas, on les décolore en traitant le cuivre en excès par du carbonate de soude ou une trace de soude. Après une opération de floculation bien conduite et sans cuivre ni ferrocyanure en grand excès, les liquides peuvent servir à une détermination polarimétrique. Pour le dosage du saccharose, cette méthode est à recommander ; pour les sucres réducteurs, on peut les doser par la méthode de FEHLING modifiée par BONNANS. Pour une floculation plus violente, on pourra employer le sulfate de cuivre au lieu de l'acétate. »

Acide trichloracétique. — Solution aqueuse au 1/4.

Ce réactif a été employé, en particulier par MOOG, pour déféquer le sang (parties égales de réactif et de sang).

Réactif Citro-picrique. — (Réactif d'ESBACH.)

Acide picrique	1 gr.
Acide citrique	2,50 gr.
Eau distillée	100 gr.

L'acide citrique est parfois remplacé par de l'acide acétique. Le réactif d'ESBACH est très employé pour la défécation du

lait (parties égales de réactif et de lait) en vue du dosage polarimétrique du lactose.

Réactif chloruro-acétique. — (Réactif de GONESCU.)

GONESCU prépare son réactif défécant en ajoutant 10 % d'acide acétique concentré à une solution de 40 % de chlorure de sodium; mais d'après DENIGES il est préférable d'employer une solution contenant 29 gr. de chlorure de sodium pour 100 cc. à laquelle on ajoute 10 cc. d'acide acétique.

Ce réactif a été employé comme défécant du sang: dans un gros tube à essai on mélange P. E. sang (ou mieux son sérum) et réactif, et porte le tube 3 minutes au B. M. bouillant, puis, après refroidissement, filtre ou centrifuge.

CHAPITRE II

DOSAGE DU GLUCOSE DANS UN LIQUIDE ALBUMINO-GLUCOSE

Nos premiers essais ont porté sur un liquide albumino-glucosé composé comme suit:

Albumine d'oeuf en paillettes	0 gr. 25
Chlorure de sodium	0 gr. 20
Glucose	0 gr. 25

Et nous avons employé comme défécants: le sous-acétate de plomb liquide, l'acétate neutre de plomb (réactif de COURTONNE), le sulfate acide de mercure (réactif de DENIGES), la solution d'acétate mercurique, la solution d'acétate de zinc, l'acide acétique au 1/10e, et le réactif de PATEIN-DUFAU. Ces divers réactifs, dont les formules ont été indiquées dans le chapitre premier, furent ajoutés dans la proportion de 10 %, sauf le réactif de PATEIN-DUFAU, qui fut employé dans la proportion de 25 cc. pour 50 cc. de liquide albumino-glucosé.

Dans les filtrats, le plomb et le mercure en excès furent éliminés comme il est dit dans le chapitre premier.

Le dosage du glucose fut fait, avant et après défécation du milieu, selon la méthode de G. BERTRAND, qui est la plus précise pour le dosage des sucres. En voici le principe:

La solution de sucre à doser est bouillie avec un excès d'oxyde cuivrique en solution alcaline: il se forme un précipité d'oxyde cuivreux proportionnel à la quantité de sucre; cet oxyde est traité par une solution de sel ferrique qui le retransforme en oxyde cuivrique, tandis qu'une quantité proportionnelle de sel ferrique est transformée en sel ferreux; celui-ci est ramené à l'état ferrique au moyen d'une liqueur de permanganate de potassium titré: des tables établies par G. BERTRAND donnent la correspondance entre les quantités de MnO^4K réduit (c'est-à-dire de cuivre précipité) et le poids des principaux sucres réducteurs.

Liqueurs employées:

Liqueur cuivrique:

Sulfate de cuivre pur	40 gr.
Eau distillée q. s. p.	1 litre

Liqueur sodique:

Sel de Seignette	200 gr.
Soude caustique	150 gr.
Eau distillée q. s. p.	1 litre

Liqueur ferrique:

Sulfate ferrique	50 gr.
Acide sulfurique	200 gr.
Eau distillée q. s. p.	1 litre

Liqueur permanganique:

Permanganate de potassium	5 gr.
Eau distillée q. s. p.	1 litre

La liqueur permanganique est titrée au moyen d'oxalate d'ammonium (sel qui n'est ni efflorescent, ni hygroscopique): en peser 250 milligrammes qu'on met dans une capsule avec 50 à 100 cc. d'eau et 1 à 2 cc. de SO^4H^2 conc.; chauffer vers 60-80° et faire écouler la liqueur de MnO^4K jusqu'à coloration rose persistante: soit n cc. écoulés. Une molécule d'oxalate

d'ammonium (P.M. = 142,1) correspondant à 2 atomes de cuivre (soit 63,6 × 2), 250 milligr. d'oxalate d'ammonium correspondent à 223,7 milligr. de cuivre, et le titre en cuivre de la liqueur permanganique est 0 gr. 2237/n, c'est-à-dire que 1 cc. de la liqueur correspond à 0,2237/n de cuivre.

Dans une fiole conique de 150 cc. environ, mettre 20 cc. de la solution sucrée (ces 20 cc. ne doivent pas contenir plus de 100 milligr. de sucre réducteur; si on emploie un volume moindre de solution, compléter les 20 cc. avec de l'eau distillée), 20 cc. de solution cuivrique et 20 cc. de solution sodique. — Chauffer jusqu'à ébullition qu'on maintient exactement 3 minutes (la solution doit rester bleue); retirer la fiole du feu, laisser déposer Cu^2O, et passer le liquide surnageant à travers un filtre d'amiante placé dans un tube à étranglement monté sur une petite fiole à vide: il faut entraîner le moins possible de Cu^2O sur le filtre, il y formerait un dépôt compact qui ne se dissoudrait plus avec toute la rapidité désirable dans la liqueur ferrique. Lorsque le liquide surnageant le précipité de Cu^2O a été séparé, délayer le précipité dans un peu d'eau distillée bouillie, laisser déposer encore une fois et décanter le liquide de lavage sur le filtre.

La fiole à filtration est alors vidée et rincée.

Dissoudre Cu^2O resté dans la fiole conique en ajoutant de la liqueur ferrique peu à peu en remuant, en quantité suffisante: 10-20 cc. Le précipité passe instantanément du rouge vif au bleu noir, puis donne une solution limpide vert d'eau.

Verser cette solution sur le filtre pour dissoudre au passage la petite quantité de Cu^2O qui y est retenue. S'il est nécessaire, ajouter encore quelques centicubes de liqueur ferrique. Quand tout Cu^2O est dissous, laver la fiole conique et le filtre avec de l'eau distillée, puis titrer avec la liqueur permanganique le liquide rassemblé dans la fiole à filtration: le virage est extrêmement net, la couleur passe du vert au rose avec une seule goutte de solution de MnO^4K en excès (cette coloration ne persiste pas). — De la quantité de liqueur permanganique

écoulée on déduit la quantité de cuivre correspondante, et les tables établies par G. BERTRAND donnent l'équivalence en sucre cherché.

Nous avons remplacé le filtre d'amiante par un filtre en verre aggloméré plus pratique.

La liqueur ferrique ne doit pas réduire le permanganate de potassium. On s'en assure en y ajoutant avec précaution de la liqueur oxydante: un faible changement de coloration doit apparaître déjà avec quelques gouttes; sinon, on verserait du permanganate jusqu'à ce que ce résultat soit atteint.

Le toluène (qui sature le liquide albumino-glucosé pour empêcher toute fermentation) ne réduit pas la liqueur cupro-alcaline.

Tous nos dosages — dans tous nos essais d'ailleurs — ont été effectués au moins deux fois.

Les résultats de nos expériences sont rassemblés dans le Tableau I.

On voit que les meilleurs résultats sont obtenus avec l'acide acétique, le sulfate mercurique ou l'acétate mercurique. L'acétate neutre de plomb retient une petite quantité de glucose, et le sous-acétate bien davantage; la même perte est constatée d'ailleurs avec le réactif de PATEIN-DUFAU.

Voici l'erreur calculée pour 100, avec chacun des défécants:

Quantité théorique: 0 gr. 250 p. 100 cc.

Sans défécation	S-Acét. Pb et Réactif Patein	Acétate Zn	Acétate neutre Pb	Acétate Hg et Sulfate Hg	Acide acétique
— 0,8	— 14	— 4,4	— 2,8	— 2	— 0,8

Dans une deuxième série d'essais, nous avons ajouté au liquide albumineux-glucosé précédent, 0 gr. 25 de glucose pour 100 cc. (soit donc, au total, une quantité théorique de glucose

Tableau I

Dosage du Glucose dans un liquide albumino-glucosé

Défécants employés	Résultats	Observations
Néant (liqueur non déféquée)	0,248 gr. p. 100 [1]	—
Sous-Acétate de Pb	0,215 „ „ „	Filtrat d'abord limpide, mais se troublant après quelques minutes
Acétate neutre de Pb	0,243 „ „ „	Filtrat limpide
Sulfate acide de Hg	0,245 „ „ „	Abondant précipité; filtrat trouble
Acétate de Hg	0,245 „ „ „	Filtrat trouble
Réactif Patein-Dufau	0,215 „ „ „	Abondant précipité; filtrat trouble
Acétate de Zn	0,239 „ „ „	Filtrat d'abord limpide, mais se troublant peu à peu
Acide acétique	0,248 „ „ „	Filtrat limpide

[1]) Quantité théorique de Glucose: 0,250 p. 100

Les défécants ont été ajoutés dans la proportion de 10 p. 100, sauf le Réactif Patein-Dufau

Tableau I^{bis}

Dosage du Glucose dans un liquide albumino-glucosé: liquide du Tableau V additionné de 0,25 gr. de Glucose p. 100

Défécants employés	Résultats	Observations
Néant (liqueur non déféquée)	0,497 gr. p. 100 [1]	—
Sous-Acétate de Pb	0,432 „ „ „	Abondant précipité
Acétate neutre de Pb	0,485 „ „ „	Filtrat trouble
Sulfate acide de Hg	0,491 „ „ „	Abondant précipité; filtrat trouble

[1]) Quantité théorique de Glucose: 0,50 gr. p. 100

Les défécants ont été ajoutés dans la proportion 10 p. 100

de 0 gr. 50 p. 100) et nous avons utilisé comme défécants seulement le sous-acétate de plomb, l'acétate neutre de plomb et le sulfate mercurique.

Les résultats des dosages sont rassemblés dans le Tableau I bis.

L'erreur calculée pour 100 se montre de même ordre, soit:

Sans défécation	S-Acétate Pb	Acét. neutre Pb	Sulfate Hg
— 0,6	— 13,6	— 3	— 1,8

Pour le dosage du glucose dans un liquide albumineux de réaction neutre, l'emploi du sous-acétate de plomb comme réactif défécant n'est donc pas recommandé, l'erreur par défaut pouvant être notable; la préférence doit être donnée à l'acétate ou au sulfate acide de mercure.

Dans un liquide uniquement albumineux et incolore, l'emploi de l'acide acétique peut suffire et il n'y a pas perte de sucre.

CHAPITRE III

DOSAGE DU GLUCOSE DANS L'URINE

Le glucose a été dosé, comme il a été indiqué dans le chapitre II, par la méthode de G. BERTRAND.

L'urine qui a servi à nos recherches a été additionnée de 0 gr. 60 de glucose pour 100 cc.; mais les substances réductrices naturelles qu'elle renfermait faisaient, exprimé en glucose, un total de 0,66 p. 100 cc. avant toute défécation. Pour sa conservation elle avait été saturée de toluène et était maintenue d'ailleurs à la glacière. Dans des premiers essais, nous avions utilisé comme antiseptique le cyanure mercurique, mais le mercure gênant le dosage, nous avons préféré le toluène pour éviter l'élimination de ce métal lorsque le défécant employé ne le nécessite pas.

Nous avons utilisé comme défécants : le sous-acétate de plomb, l'acétate neutre de plomb, l'acétate mercurique, le sulfate mercurique, l'acétate de zinc, le réactif de PATEIN-DUFAU, et également le ferrocyanure de cuivre colloïdal indiqué par BELTRAN.

Ils ont été ajoutés à l'urine dans la proportion de 10 p. 100 sauf le réactif de PATEIN-DUFAU et celui de BELTRAN.

Plomb et mercure en essai ont été éliminés dans les filtrats, ainsi qu'il est indiqué au chapitre premier.

Voici le mode opératoire suivi pour l'emploi du réactif de PATEIN-DUFAU :

Dans une fiole jaugée de 100 cc. on met :

Urine	50 cc.
Réactif	25 cc.

et on ajoute de la lessive de soude goutte à goutte, en agitant, jusqu'à réaction neutre, puis de l'eau q. s. p. 100 cc., et on filtre. A 50 cc. du filtrat (correspondant à 25 cc. d'urine) on ajoute 2 gr. de poudre de zinc et on agite de temps en temps pendant 3 heures. On filtre, prélève 40 cc. du filtrat (= 20 cc. Urine) que l'on verse dans une fiole jaugée de 50 cc. et on alcalinise avec suffisamment de lessive de soude pour redissoudre l'oxyde de zinc qui se précipite, puis on complète à 50 cc. avec de l'eau distillée.

Pour le dosage on prélève 25 cc. de cette solution alcaline (ils correspondent à 10 cc. d'urine) auxquels on ajoute 15 cc. de liqueur sodique et 20 cc. de liqueur cuivrique.

Quant au ferrocyanure de cuivre colloïdal préconisé par BELTRAN, il a été déterminé au sein du liquide de la façon suivante :

Urine (qui renfermait outre 0 gr. 60 de glucose, 0 gr. 20 d'albumine p. 100)	50 cc.
Solution de ferrocyanure de potassium à 2 p. 10	5 cc.
Solution saturée d'acétate de cuivre, ajoutée goutte à goutte	15 cc.
Eau q. s. p.	100 cc.

On agite vivement et filtre (filtrat jaune). Le dosage est fait sur 20 cc. de filtrat qui correspondent à 10 cc. d'urine.

Les résultats des dosages sont consignés dans le Tableau II.

Ceux obtenus après défécation par l'acétate neutre de plomb, ou le sulfate acide de mercure, ou l'acétate mercurique, sont semblables, et sont les meilleurs ; le sous-acétate et le réactif

Tableau II

Dosage du Glucose dans l'Urine

Défécants employés	Résultats	Observations
Néant (Urine non déféquée)	0,66 gr. p. 100 [1]	Coloration jaune paille
Sous-Acétate de Pb	0,56 „ „ „	Abondant précipité Filtrat jaune pâle
Acétate neutre de Pb	0,64 „ „ „	id.
Sulfate acide de Hg	0,64 „ „ „	Trouble Filtrat jaune pâle
Acétate de Hg	0,64 „ „ „	id.
Réactif Patein-Dufau	0,56 „ „ „	Abondant précipité Filtrat incolore
Acétate de Zn	0,60 „ „ „	Léger précipité Filtrat jaune pâle
Ferrocyanure de Cu colloïdal	0,61 „ „ „	Abondant précipité rouge-brun Filtrat jaune

[1]) Quantité de Glucose ajoutée: 0,60 gr. p. 100

Les défécants ont été ajoutés à l'urine dans la proportion de 1 p. 10, sauf le Réactif de Patein-Dufau et le Ferrocyanure de Cuivre colloïdal.

de PATEIN donnent les résultats les moins bons; l'acétate de zinc et le ferrocyanure de cuivre donnent des résultats intermédiaires.

L'erreur calculée pour 100, correspondant à chacun de ces défécants, est la suivante:

S-Acétate Pb Réactif Patein	Acétate Zn	Ferro-cyanure Cu	Acétate neutre Pb Acétate Hg Sulfate Hg
— 15	— 9	— 7	— 3

D'autre part si le réactif de PATEIN détermine la même erreur par défaut que le sous-acétate de plomb, par contre il assure une décoloration parfaite.

CHAPITRE IV

DOSAGE DES SUCRES REDUCTEURS DANS LE VIN

Nos essais ont été faits sur trois échantillons de vin: un vin blanc et deux vins rouges, dont l'un sensiblement plus riche en extrait que l'autre. Nous avons dans chacun d'eux déterminé l'acidité totale et l'extrait sec selon les méthodes officielles suivies dans les laboratoires d'Etat et que nous rappelons.

Détermination de l'acidité totale.

On se sert d'une liqueur de soude N/20.

Dans un vase on met:

5 cc. vin,
V gouttes solution phénolphtaléine à 1/100,
150 cc. eau distillée.

On amène ce mélange à 80° environ, en le plaçant sur le B.M. et on agite de manière à chasser l'anhydride carbonique.

Dans le liquide refroidi on ajoute la liqueur de soude jusqu'à teinte rose persistante. Avec le vin rouge, le liquide prend d'abord une teinte feuille morte ou brunâtre (c'est la matière colorante du vin qui vire ainsi sous l'influence de la soude ajoutée), puis il paraît gris-bleu, puis presque incolore et enfin

vire au rose: c'est le vrai virage de la phtaléine que l'on saisit très nettement. Surtout si l'on a soin de placer le vase au-dessus d'une feuille de papier blanc. L'acidité est exprimée en acide sulfurique et par litre de vin.

Détermination de l'extrait sec.

Il a été déterminé par évaporation à 100°. Dans une capsule à fond plat, tarée, de 7 centimètres de diamètre et 22 millimètres de haut, on met 25 cc. de vin et on maintient la capsule pendant 6 heures consécutives au B.M. bouillant (la capsule doit déborder à peine l'ouverture du B.M., et l'eau de celui-ci doit arriver à 5 ou 6 centimètres du fond de la capsule). Au bout de ce temps, retirer la capsule, l'essayer soigneusement, la laisser refroidir dans un exsiccateur et la peser.

Dosage des Sucres réducteurs.

La méthode officielle suivie dans les laboratoires d'Etat est la suivante:

Dans une fiole jaugée à 2 traits de 100-110 cc. mettre:

100 cc. vin,

Bicarbonate de soude pulv. jusqu'à neutralisation, et une pincée en plus,

5 cc. sous-acétate de plomb liquide,

puis quantité suffisante d'eau distillée pour faire 110 cc.

Agiter et filtrer, Ajouter au liquide filtré un peu de bicarbonate de soude (pour se débarrasser du plomb), agiter et filtrer à nouveau.

Si le liquide ainsi obtenu n'était pas suffisamment décoloré, on ajouterait une pincée de noir décolorant pour achever la décoloration; on agite, on laisse en contact pendant un quart d'heure environ, puis on filtre.

Pour faire le dosage, on emploie 5 cc. le liqueur de FEHLING (correspondant à 0 gr. 025 de glucose). Si le volume de vin déféqué nécessaire pour obtenir la réduction est inférieur

à 5 cc., on étend le liquide d'une quantité connue et de manière qu'il faille employer entre 5 et 10 cc. On calcule en glucose le pouvoir réducteur observé qu'on ramène par le calcul à un litre de vin.

Nous avons suivi les indications générales de cette technique (sans jamais employer toutefois de noir décolorant), mais en lui adaptant la méthode de dosage des sucres de G. BERTRAND, c'est-à-dire en prélevant du filtrat une quantité correspondant à 20 cc. de vin et en lui ajoutant les quantités nécessaires de liqueurs sodique et cuivrique.

Comme défécant, nous avons employé le sous-acétate de plomb, l'acétate neutre de plomb, l'acétate et le sulfate mercuriques, l'acétate de zinc, le réactif de PATEIN-DUFAU, et en outre pour les vins rouges, le ferrocyanure de cuivre colloïdal.

Dans les filtrats les excès de plomb et de mercure sont éliminés comme il est indiqué au chapitre premier.

A. Vin blanc

Acidité totale (exprimée en SO^4H^2) : 5 gr. 20 par litre,
Extrait sec : 14 gr. par litre.

Les défécants ont été ajoutés au vin dans la proportion de 5 pour 100 cc., sauf le réactif de PATEIN-DUFAU, qui a été employé comme suit :

Dans une fiole jaugée de 125 cc. on met :

Vin . . . . . 100 cc.
Bicarbonate de soude pulvérisé jusqu'à neutralisation.
Réactif Patein-Dufau . . . . . 10 cc.
Lessive de soude au 1/2 goutte à goutte jusqu'à réaction alcaline,
Eau distillée q. s. p. pour 125 cc.

Mélanger et filtrer.

Pour le dosage on prélève 25 cc. de filtrat correspondant à 20 cc. de vin) auxquels on ajoute 15 cc. le liqueur sodique et 20 cc. de liqueur cuivrique de BERTRAND.

Les résultats des dosages sont réunis dans le Tableau III.

Après défécation par l'acétate ou le sulfate mercurique, de même que par l'acétate de zinc, on retrouve dans le filtrat le même taux de sucres réducteurs que par dosage direct dans le vin non déféqué; il y a perte de sucre après défécation par les réactifs de COURTONNE et de PATEIN-DUFAU, tous deux déterminant la même perte, et la perte est plus grande encore avec le sous-acétate de plomb.

Voici l'erreur calculée pour 100, avec chacun des défécants:

Quantité de sucres réducteurs trouvée avant défécation: 0 gr. 125 p. 100 cc.

Sous-Acétate Pb	Acétate neutre Pb Réactif Patein	Acétate Hg Sulfate Hg Acétate Zn
— 8	— 4	0

B. Vin rouge — Premier Echantillon

Acidité totale (exprimée en SO^4H^2): 5 gr. 22 par litre,
Extrait sec: 19 gr. par litre.

Les défécants ont été ajoutés au vin dans la proportion de 5 p. 100 cc., sauf le réactif de PATEIN-DUFAU, qui a été employé comme il a été indiqué pour le vin blanc, et sauf le ferrocyanure de cuivre qui a été mis en oeuvre de la façon suivante:

Dans une fiole jaugée de 125 cc. on met 100 cc. de vin, 5 cc. de la solution de ferrocyanure de potassium à 20 p. 100,

Tableau III

Dosage des Sucres réducteurs dans le Vin blanc

Défécants employés	Résultats	Observations
Néant (Vin non déféqué)	0,125 gr. p. 100	Coloration jaune pâle
Sous-Acétate de Pb	0,115 „ „ „	Filtrat presque incolore ; devient jaune-brun après élimination du Pb
Acétate neutre de Pb	0,120 „ „ „	Filtrat incolore ; devient jaune-brun après élimination du Pb
Sulfate acide de Hg	0,125 „ „ „	Filtrat jaunâtre, louche
Acétate de Hg	0,125 „ „ „	Filtrat brunâtre
Réactif Patein-Dufau	0,120 „ „ „	Filtrat incolore
Acétate de Zn	0,125 „ „ „	Filtrat brun sale

Acidité totale (Méthode officielle) : 5,20 gr. par litre, exprimé en SO^4H^2

Extrait sec : 14 gr. par litre

Les défécants ont été ajoutés au vin dans la proportion de 5 p. 100, sauf le Réactif Patein-Dufau.

puis goutte à goutte 5 cc. de solution saturée d'acétate de cuivre et on complète à 125 cc. avec de l'eau distillée. On agite vivement, et centrifuge. Pour le dosage on prélève 25 cc. de liquide clair (correspondant à 20 cc. de vin), auxquels on ajoute les solutions sodique et cuivrique de BERTRAND.

D'autre part nous avons, dans un deuxième essai, ajouté le sous-acétate de plomb dans la proportion de 10 p. 100, toutes choses égales d'ailleurs.

Les résultats des divers dosages sont rassemblés dans le Tableau IV.

Un dosage a été fait avec le vin rouge non déféqué, mais ici on ne saurait tenir compte du résultat ainsi obtenu pour établir un pourcentage d'erreur après l'emploi des divers défécants. En effet, diverses substances (tanin, matières colorantes, etc...) autres que les sucres réducteurs interviennent dans la réduction de l'oxyde cuivrique, et la comparaison est faussée.

Notons seulement que le résultat le meilleur est donné après défécation par le ferrocyanure de cuivre colloïdal. Par rapport à ce résultat, ceux obtenus avec le sous-acétate et l'acétate neutre de plomb, l'acétate de zinc, l'acétate et le sulfate mercuriques accusent une erreur par défaut de 16 p. 100; le réactif PATEIN-DUFAU donne une erreur plus forte: 21 p. 100.

Les divers défécants aux sels de plomb, de mercure ou de zinc, sauf le réactif de PATEIN-DUFAU, ont tous été ajoutés au vin dans la proportion de 5 p. 100 et le sous-acétate de plomb ne s'est pas montré plus nuisible que les autres. Mais si on l'ajoute dans la proportion de 10 p. 100 (Essai II), le taux de sucre réducteur trouvé tombe de 0 gr. 246 à 0 gr. 205, soit une diminution de 16 p. 100, et l'erreur par défaut, comparativement au résultat donné après défécation par le ferrocyanure de cuivre, devient 30 p. 100. Nous allons retrouver un fait semblable dans les essais suivants.

Tableau IV

Dosage des Sucres réducteurs dans le Vin rouge

Défécants employés	Résultats	Observations
Néant (Vin non déféqué)	0,344 gr. p. 100	—
Sous-Acétate de Pb — Essai I	0,246 „ „ „	Filtrat rouge ; devient plus foncé après élimination du Pb
Sous-Acétate de Pb — Essai II	0,205 „ „ „	Filtrat rose pâle ; non changé après élimination du Pb
Acétate neutre de Pb	0,246 „ „ „	Filtrat rouge ; devient plus foncé après élimination du Pb
Sulfate acide de Hg	0,246 „ „ „	Filtrat rosé
Acétate de Hg	0,246 „ „ „	Filtrat brun pâle
Réactif Patein-Dufau	0,221 „ „ „	Filtrat incolore
Acétate de Zn	0,246 „ „ „	Filtrat rouge brunâtre
Ferrocyanure de Cu colloïdal	0,295 „ „ „	Abondant précipité rouge, filtrat rouge

Acidité totale (Méthode officielle) : 5,22 gr. par litre, exprimé en SO^4H^2

Extrait sec : 19 gr. par litre

Les défécants ont été ajoutés au vin dans la proportion de 5 p. 100, sauf dans l'Essai II du Sous-Acétate de Pb, où celui-ci fut ajouté dans la proportion de 10 p. 100 ; et sauf le Réactif Patein-Dufau et le Ferrocyanure de Cuivre colloïdal.

C. Vin rouge — Deuxième Echantillon

Acidité totale (exprimée en SO^4H^2) : 5 gr. 20 par litre,
Extrait sec : 23 gr. 22 par litre.

A ce vin, les défécants furent ajoutés dans la proportion de 10 p. 100, sauf le réactif de PATEIN-DUFAU, qui fut, comme précédemment, employé selon sa technique classique.

En outre, dans d'autres essais, le sous-nitrate et l'acétate neutre de plomb furent ajoutés dans la proportion seulement de 5 p. 100.

Les résultats des dosages sont rassemblés dans le Tableau V.

Toutes choses égales d'ailleurs, c'est le sulfate et l'acétate mercuriques, ainsi que l'acétate de zinc qui laissent également le taux le plus élevé de sucre réducteur. Comparés à ce taux, ceux obtenus avec les autres défécants donnent les écarts calculés pour cent suivants :

Sous-Acétate Pb	Réactif Patein	Acétate neutre Pb
— 22	— 16	— 13

Si l'on compare, d'autre part, les résultats obtenus lorsqu'on emploie 5 p. 100 de sous-acétate ou d'acétate neutre de plomb (Essai II) au lieu de 10 p. 100 (Essai I), on constate des différences analogues à celles observées précédemment : la teneur des filtrats en sucres réducteurs s'élève dans la proportion de 16 p. 100 avec le sous-acétate et de 5 p. 100 avec l'acétate neutre, et au total elle devient la même avec l'un et l'autre sel de plomb.

En ce qui concerne la défécation elle-même, abstraction faite des sucres retenus, le réactif de PATEIN-DUFAU tel qu'il est employé apparaît de toute évidence comme le meilleur défécant : il laisse un filtrat limpide et tout à fait incolore, ce

Tableau IV

Dosage des Sucres réducteurs dans le Vin rouge (Vin de Bordeaux)

Défécants employés		Résultats	Observations
Néant (Vin non déféqué)		0,316 gr. p. 100	—
Sous-Acétate de Pb	Essai I	0,184 „ „ „	Filtrat violet pâle ; devient brun après élimination du Pb
	Essai II	0,215 „ „ „	id.
Acétate neutre de Pb	Essai I	0,205 „ „ „	Filtrat violet pâle ; devient brun verdâtre après élimination du Pb
	Essai II	0,215 „ „ „	id.
Sulfate acide de Hg		0,236 „ „ „	Filtrat rougeâtre
Acétate de Hg		0,235 „ „ „	Filtrat violet pâle ; devient incolore après élimination du Hg
Réactif Patein-Dufau		0,199 „ „ „	Filtrat incolore
Acétate de Zn		0,236 „ „ „	Filtrat trouble, devenant limpide, mais rouge foncé par addition de ac. acétique au $^1/_{10}$

Acidité totale (Méthode officielle) : 5,20 gr. par litre, exprimé en SO^4H^2

Extrait sec : 23,22 gr. par litre

Les défécants ont été ajoutés au vin dans la proportion de 10 p. 100, sauf dans les Essai II des S-Acétate et Acétate de Pb, où ces réactifs furent ajoutés dans la proportion de 5 p. 100; et sauf le Réactif Patein-Dufau.

qui n'a été obtenu avec aucun autre; même le sulfate acide de mercure laisse un filtrat coloré.

Avec le ferrocyanure de cuivre colloïdal le filtrat demeure rouge, et peut-être le résultat plus élevé du dosage des sucres réducteurs, obtenu avec ce défécant, est-il dû à cette défécation imparfaite laissant dans le liquide des matières colorantes et autres possédant des propriétés réductrices.

CHAPITRE V

DOSAGE DU LACTOSE DANS LE LAIT

D'après les méthodes officielles indiquées par le Ministère de l'Agriculture pour l'analyse du lait, le dosage du lactose dans ce liquide se fait après avoir coagulé la caséine et les matières grasses au moyen de l'alcool acidifié par l'acide acétique et séparé le coagulum formé soit par filtration, soit par centrifugation. Le sérum ainsi obtenu ne contient que le lactose et les sels minéraux. L'analyse porte sur 10 cc. de lait. Le mode opératoire du procédé par filtration, qui est le plus couramment employé, est le suivant:

Mettre dans un vase: 25 cc. d'alcool à 65° acidifié au 1/1000e par de l'acide acétique, 10 cc. de lait ajoutés goutte à goutte en agitant au fur et à mesure le mélange. Après un quart d'heure de repos, filtrer le coagulum formé sur un petit filtre humecté préalablement avec de l'alcool et recueillir le liquide dans une fiole jaugée de 100 cc. Lorsque le filtre est égoutté, laver le vase à trois reprises différentes avec 10 cc. d'alcool à 35°; verser chaque fois le liquide alcoolique sur le filtre en ayant soin de laisser celui-ci égoutter après chaque lavage; terminer en arrosant avec 10 cc. d'alcool à 25°. Tous ces liquides sont recueillis dans la fiole jaugée et l'on complète le volume à 100 cc. avec de l'eau distillée. Ce liquide servira au dosage du lactose.

Le lait servant à nos essais était additionné par litre de 5 cc. d'une solution de bichromate de potassium à 4 %, et maintenu à la glacière.

Nous avons employé comme défécants, la méthode officielle de défécation à l'alcool acétique servant de comparaison: le sous-acétate de plomb, le réactif d'ESBACH, le réactif de CARREZ (ferrocyanure double de potassium et de zinc), le ferrocyanure de cuivre colloïdal, le métaphosphate de soude et l'acide phosphotungstique.

Les dosages du lactose furent faits, comme précédemment ceux du glucose, selon la technique de G. BERTRAND.

Une première série d'essais faits en employant les défécants précédemment utilisés (sous-acétate et acétate de plomb, acétate et sulfate mercuriques, acétate de zinc, réactif de PATEIN-DUFAU), nous ayant donné des résultats surprenants, comparativement avec ceux obtenus avec la méthode officielle de défécation à l'alcool-acétique, lorsqu'on ajoute au lait des quantités croissantes de lactose, nous avons repris nos recherches en les limitant à l'emploi des défécants suivants: sous-acétate de plomb, réactif d'ESBACH, réactif de CARREZ (ferrocyanure, double de potassium et de zinc), ferrocyanure de cuivre colloïdal, métaphosphate de soude et acide phosphotungstique ; et nous avons additionné le lait successivement de 5, 10, 15 et 20 grammes de lactose par litre, les résultats obtenus avec la méthode officielle de défécation servant chaque fois de comparaison.

Les dosages du lactose furent faits, comme précédemment ceux du glucose, celon la technique de G. BERTRAND.

Les résultats sont réunis dans les Tableaux VI.

Avec le sous-acétate de plomb, ajouté dans la proportion de 5 cc. pour 2 cc. de lait, le taux de lactose trouvé est sensiblement le même que celui obtenu après défécation par l'alcool acétique selon la méthode officielle, et cela qu'il s'agisse du lait nature ou du lait additionné de 5 ou de 15 grammes de lactose par litre; l'écart en moins qui peut parfois être observé

Tableau VI

Dosage du lactose dans le lait

Défécants employés	Résultats	Observations
	A. Lait nature	
Alcool acétique (Méthode officielle)	39,60 gr. p. 1000 cc.	—
Sous-Acétate de Pb (5 cc. p. 20 cc. lait)	38,90 „ „ „ „	Volumineux précipité, filtrat clair
	B. Lait A additionné de 5 gr. de lactose p. 1000 cc.	
Alcool acétique (Méthode officielle)	44,30 gr. p. 1000 cc.	id.
Sous-Acétate de Pb	44,30 „ „ „ „	id.
	C. Lait A additionné de 10 gr. lactose p. 1000 cc.	
Alcool acétique (Méthode officielle)	49,20 gr. p. 1000 cc.	id.
Sous-Acétate de Pb	48,80 „ „ „ „	id.
	D. Lait nature	
Alcool acétique (Méthode officielle)	40,40 gr. p. 1000 cc.	id.
Réactif d'Esbach (50 cc. p. 50 cc. lait)	45,70 „ „ „ „	id.

Tableau VI (suite)

Défécants employés	Résultats	Observations
E. Lait D additionné de 10 gr. lactose p. 1000 cc.		
Alcool acétique (Méthode officielle)	50,40 gr. p. 1000 cc.	Volumineux précipité, filtrat clair
Réactif d'Esbach (50 cc. p. 50 cc. lait)	56,40 „ „ „ „	id.
Réactif de Carrez (5 cc. p. 10 cc. lait)	56,40 „ „ „ „	id.
Acide phosphotungstique à 10 %, (5 cc. p. 20 cc. lait)	55,10 „ „ „ „	id. (filtration lente)
Métaphosphate de soude à 5 % (3 cc. p. 10 cc. lait) et acide acétique	55,10 „ „ „ „	id.
F. Lait nature		
Alcool acétique (Méthode officielle)	40,40 gr. p. 1000 cc.	id.
Ferrocyanure de Cu colloïdal	44,30 „ „ „ „	Abondant précipité rouge brun, filtrat jaune verdâtre
G. Lait F additionné de 20 gr. lactose p. 1000 cc.		
Alcool acétique (Méthode officielle)	55,80 gr. p. 1000 cc.	—
Ferrocyanure de Cu colloïdal	63,60 „ „ „ „	Filtrat limpide jaune verdâtre

avec le défécant plombique n'atteint pas 2 p. 100, et par conséquent est de l'ordre des erreurs expérimentales.

Avec les autres défécants, toutes choses égales d'ailleurs, l'écart devient important et en défaveur de la méthode officielle: ainsi avec le réactif citro-picrique d'ESBACH (ajouté au lait volume à volume) on trouve 45 gr. 70 de lactose par litre, et avec la méthode officielle 40 gr. 40 seulement, soit une différence de 11,5 p. 100.

Si à ce lait on ajoute 10 gr. de lactose (1) par litre, on retrouve la même différence, et cette différence se répète identique ou sensiblement identique avec le réactif de CARREZ (ajouté dans la proportion de 5 cc. pour 20 cc. de lait comme il est indiqué au chapitre premier), avec le métaphosphate de soude (employé comme suit: 10 cc. de lait + 3 cc. sol. métaphosphate de soude à 5 % + 60 à 70 cc. d'eau, agiter et ajouter 15 gouttes d'acide acétique, compléter à 100 cc. et filtrer), avec l'acide phosphotungstique (solution au dixième, ajoutée au lait dans la proportion de 5 pour 20 cc.); avec les deux derniers défécants, l'écart est seulement de 8,5 p. 100.

Il semble donc que le coagulum produit par l'alcool-acétique (méthode officielle), comme d'ailleurs le précipité plombique, retiennent du lactose.

Mais il y a plus: ayant dosé le lactose dans un lait normal par la méthode officielle et obtenu 40 gr. 40 p. 1.000, puis ayant additionné ce lait de 20 gr. de lactose par litre, et ayant fait un nouveau dosage par la méthode officielle, nous n'avons pas trouvé 60 gr. 40 p. 1.000, mais seulement 55 gr. 80, soit une perte de 23 p. 100. Ce même lait déféqué par le ferrocyanure de cuivre colloïdal (10 cc. lait + 5 cc. ferrocyanure de potassium au 1/5e, + 15 cc. acétate de cuivre + eau q. s. p. 100 cc.) donne, comme teneur en lactose, avant et après addition de 20 gr. de

(1) Le lactose est au préalable dissous dans une petite quantité d'eau, et cette solution est ajoutée au lait que l'on évapore ensuite dans le vide pour le ramener au volume initial

ce sucre, respectivement 44 gr. 30 et 63 gr. 60, c'est-à-dire que le lactose se retrouve presque intégralement.

Nous avons essayé également si cette rétention était spéciale au lactose, ou se manifestait aussi avec le glucose, et dans ce but nous avons fait l'essai suivant:

1° Lait nature, déféqué selon la méthode officielle: volume de liqueur permanganique employé pour le dosage du lactose: 5 cc. 6;

2° Même lait, additionné de 20 gr. de glucose par litre (le volume initial restant le même): volume de liqueur permanganique écoulé: 9 cc.

9 cc. — 5,6 = 3 cc. 4 de MnO^4K, correspondant à 17 gr. de glucose par litre au lieu de 20 gr., soit une perte de 15 p. 100.

Nous avons tenté vainement de mettre en évidence la présence de lactose dans le coagulum que détermine l'alcool-acétique de la méthode officielle: ayant délayé et chauffé ce coagulum avec de l'eau puis filtré, le filtrat ne présente aucune propriété réductrice. Même résultat négatif en traitant le coagulum avec de l'eau alcalinisée.

Se forme-t-il avec la caséine comme avec le plomb une combinaison rendant le sucre indécelable? Mais d'autre part en dosant le lactose, selon la méthode officielle, d'abord dans une solution aqueuse à 4 % telle quelle, ou additionnée de 0 gr. 50 d'ovalbumine, ou additionnée de 0 gr. 50 d'ovalbumine et de 3 gr. de caséine, nous avons toujours retrouvé la même quantité de sucre.

Des recherches sont à poursuivre sur ce sujet.

CHAPITRE VI

DOSAGE DU SUCRE REDUCTEUR FOURNI PAR UN GLUCOSIDE DANS UNE MACERATION AQUEUSE DE DROGUE

On sait que les glucosides sont des principes immédiats pouvant se rencontrer chez tous les êtres vivants, mais surtout très répandus dans le monde végétal, et susceptibles de se décomposer par hydrolyse pour donner naissance, d'une part à un ou plusieurs sucres réducteurs, et d'autre part à un ou plusieurs corps pouvant présenter les fonctions chimiques les plus diverses, et que l'on désigne généralement sous le nom d'aglycone : l'aglycone est, en somme, tout ce qui, dans les glucosides, n'est pas matière sucrée.

Il n'existe pas de procédé uniforme permettant d'extraire les glucosides des tissus végétaux qui les contiennent : le plus souvent ils sont extraits au moyen de dissolvants neutres (eau, alcool, etc...), mais ils peuvent être engagés aussi dans une combinaison insoluble convenablement choisie (combinaison avec oxyde de plomb, tanin...), cette combinaison est ensuite décomposée par un traitement chimique approprié. Quoi qu'il en soit, on a généralement à déféquer les liquides extracteurs qui les renferment, afin de réaliser convenablement leur recherche ou leur dosage.

Cette recherche ou ce dosage peuvent se faire en tirant parti des propriétés communes qu'ont les glucosides de donner par dédoublement des sucres réducteurs.

L'hydrolyse peut s'effectuer sous l'influence de deux groupes d'agents, de nature essentiellement différente: d'une part les acides à des dilutions et à des températures variables, d'autre part des diastases hydratantes.

En réalité, l'emploi des acides comme agents d'hydrolyse peut, dans certains cas spéciaux, rendre quelques services au point de vue de la recherche des glucosides; mais il importe de se placer dans des conditions d'expérimentation bien délimitées. Supposons, en effet, que sur une solution aqueuse extractive, renfermant les principes solubles dans l'eau d'une plante déterminée, nous fassions agir à une température voisine de 100° de l'acide sulfurique à la concentration de 2 à 5 p. 100: si au cours de ce traitement, il n'est pas apparu de sucre réducteur dans la solution ou si la quantité de ce principe, présente à l'origine, n'a pas varié, nous serons autorisés à conclure à l'absence très probable de glucosides dans la solution essayée.

Mais si on constate une augmentation plus ou moins notable de sucre réducteur, on ne saurait formuler aucune conclusion sûre: beaucoup de principes immédiats, dans les végétaux, sont susceptibles, en effet, de fournir un sucre réducteur sous l'influence des acides minéraux dilués agissant à une température plus ou moins élevée.

Si donc on veut utiliser les acides pour en faire des indicateurs de glucoside, il faudra envisager ces derniers non au point de vue des sucres réducteurs mis en liberté, mais au point de vue de l'aglycone. Il en résulte que l'emploi des acides est limité à la recherche de glucosides déterminés, dont l'aglycone est déjà connu et peut être facilement isolé ou caractérisé.

En dehors du fait que les acides n'agissent pas spécifiquement sur les glucosides, leur emploi peut présenter aussi des inconvénients par suite de leur action trop violente sur cer-

tains constituants fragiles des glucosides: on n'obtient alors que des produits d'altération non caractéristiques.

Les diastases hydratantes au contraire sont des agents hydrolysants spécifiques, limitant aux glucosides leur action. et d'autre part n'exerçant aucune action nocive sur les produits d'hydrolyse. Leur emploi constitue la méthode biochimique de recherche, indiquée par BOURQUELOT en 1901, et qui est relativement aisée et conduit à des conclusions très sûres.

La diastase couramment employée comme agent d'hydrolyse est l'émulsine ou synaptase. La technique est simple:

Le liquide extractif dans lequel on veut rechercher la présence de glucoside est additionné d'une petite quantité de carbonate de calcium en suspension et porté à l'ébullition. Le carbonate de calcium est destiné à saturer les acides végétaux susceptibles d'agir sur les glucosides; d'autre part l'ébullition détruit toutes les diastases qui peuvent se trouver en solution dans le liquide.

Celui-ci, après défécation et filtration, concentration ou dilution dans les conditions déterminées, est additionné de toluène pour éviter toute altération consécutive à l'intervention des microorganismes, et on détermine son pouvoir rotatoire ou bien son pouvoir réducteur. Puis on lui ajoute une petite quantité d'émulsine et on le place à l'étuve à 37° pendant un certain temps (1 à 4 jours), et on fait un nouvel examen polarimétrique ou un nouvel examen avec la liqueur cupro-alcaline: si la déviation a changé ou s'il y a production de sucre réducteur, c'est que le liquide en essai renfermait un glucoside. — Dans certaines conditions, on peut ainsi procéder au dosage des glucosides en effectuant, soit par la méthode physique au polarimètre, soit par la méthode chimique, le dosage des sucres réducteurs mis en liberté dans le dédoublement.

Nous avons préparé une macération aqueuse d'un mélange de drogues pulvérisées existant au laboratoire et ayant fait

l'objet d'études antérieures; comme glucoside nous avons choisi l'amygdaline, qui est soluble dans l'eau et se dédouble sous l'action de l'émulsine pour donner d'une part du glucose, et d'autre part, comme aglycone, de l'acide cyanhydrique et de l'aldéhyde benzoïque.

$$C^{20}H^{27}NO^{11} + 2H^2O = 2C^6H^{12}O^6 + CNH + C^6H^5—COH$$

Pour nous rendre compte de la quantité de glucose libéré dans nos conditions expérimentales, nous avons fait l'essai préliminaire suivant: dans 50 cc. d'eau distillée nous avons dissous 0 gr. 40 d'amygdaline, puis ajouté 0 gr. 15 d'émulsine, quelques gouttes de toluène, et, après agitation, placé le flacon contenant ce mélange à l'étuve à 37° pendant 24 heures.

Au bout de ce temps, nous avons dosé le glucose dans le liquide filtré, selon la méthode de BERTRAND, et avons trouvé: 0 gr. 521 de glucose pour 100 cc.

Par ailleurs voici le mode opératoire général que nous avons suivi:

400 gr. de drogues pulvérisées sont mis à macérer pendant 24 heures environ à l'étuve à 37° dans un litre 1/2 d'eau additionné d'un peu de carbonate de chaux et de toluène. (On agite de temps en temps.) On filtre et fait bouillir le filtrat quelques minutes en présence de carbonate de chaux pour détruire les diastases, puis filtre à nouveau après refroidissement, complète le filtrat à 100 cc. (sa réaction est neutre), le sature de toluène, et le répartit en 2 flacons, l'un renfermant 400 cc. (flacon I), l'autre 600 cc. (flacon II), que l'on conserve à la glacière.

A. *Opérations faites avec le liquide du flacon I.*

Dans le liquide tel quel, sans défécation, nous avons dosé les sucres réducteurs, sur 100 cc. et effectué ce même dosage après défécation faite avec les défécants suivants: sous-acétate et acétate neutre de plomb, acétate et sulfate mercuriques, acétate de zinc, réactif de PATEIN-DUFAU. — Ces défécants

étaient ajoutés dans la proportion de 5 p. 50 cc., sauf le réactif de PATEIN-DUFAU employé selon sa technique propre décrite antérieurement.

B. *Opérations faites avec le liquide du flacon II.*

A la totalité du liquide (500 cc.) on ajoute 5 gr. d'amygdaline. Dans le liquide amygdaliné, sans défécation, on dose les sucres réducteurs, en opérant sur 10 cc. (essai témoin). Puis on défèque 50 cc. de liquide amygdaliné avec chacun des défécants précédents, ajoutés dans la même proportion.

30 cc. des divers filtrats aussitôt obtenus sont mis dans des flacons, additionnés de trois gouttes de toluène, puis bouchés et placés à la glacière (après avoir été convenablement étiquetés).

Quand tous les défécants ont été employés, les divers flacons sont retirés de la glacière et on ajoute dans chacun d'eux 0 gr. 10 d'émulsine. — Dans un autre flacon on met 30 cc. de liquide amygdaliné non déféqué auquel on ajoute de même 0 gr. 10 d'émulsine. On agite semblablement tous les flacons pour bien répartir l'émulsine et on les place à l'étuve à 37° pendant 48 heures. — Au bout de ce temps, on les porte tous dans la glacière, à + 2° (les diastases n'agissent pas à cette température), et on fait le dosage du glucose dans chacun d'eux, en les retirant de la glacière au fur et à mesure de l'emploi.

Les résultats obtenus avant et après addition d'amygdaline sont rassemblés dans le Tableau VII. Ils sont exprimés en glucose.

Avant addition du glucoside, on constate que le liquide déféqué par le sous-acétate de plomb renferme notablement moins de sucres réducteurs que le liquide non déféqué, mais par contre l'inverse se produit après défécation par les acétate et sulfate mercurique et par le réactif de PATEIN-DUFAU : sans doute ces défécants déterminent-ils une hydrolyse des sucres hydrolysables contenus dans la drogue.

Tableau VII.

Dosage du Sucre réducteur fourni par un Glucoside (amygdaline) dans une macération aqueuse de drogue

Défécants employés	Résultats		Observations
	avant addition du Glucoside	après addition du Glucoside	
Néant (Macération non défléquée)	0,263 gr. p. 100	1,008 gr. p. 100	Filtrat jaune-brunâtre
Sous-Acétate de Pb	0,198 „ „ „	0,873 „ „ „	Abondant précipité; filtrat jaune pâle
Acétate neutre de Pb	0,277 „ „ „	1,008 „ „ „	id.
Sulfate acide de Hg	0,311 „ „ „	0,506 „ „ „	Trouble; filtrat jaune brunâtre
Acétate de Hg	0,365 „ „ „	1,007 „ „ „	id.
Réactif Patein-Dufau	0,349 „ „ „	rien	Trouble d'abord, puis précipité abondant après alcalinisation. Filtrat incolore
Acétate de Zn	0,277 „ „ „	0,682 „ „ „	Précipité; Filtrat jaune

Les défécants ont été ajoutés dans la proportion de 10 p. 100, sauf le Réactif Patein-Dufau

Après addition de glucoside et action de l'émulsine, il y a augmentation notable du taux du glucose: dans le liquide non déféqué, ce taux passe de 0 gr. 263 à 1 gr. 008, soit une augmentation des 745 milligr. L'augmentation est sensiblement la même dans le liquide déféqué par l'acétate neutre de plomb; mais elle n'est que de 675 mgr. après défécation par le sous-acétate de plomb, de 642 mgr. après défécation par l'acétate mercurique, de 405 après défécation par l'acétate de zinc et de 195 mgr. seulement après défécation par le sulfate acide de mercure, toutes choses égales d'ailleurs. Quant au liquide déféqué par le réactif de PATEIN, il n'a plus donné aucune réduction.

La perte constatée après défécation par le sous-acétate de plomb n'a rien qui nous surprenne, étant donné ce que les recherches antérieures nous ont appris sur l'action de ce défécant. Plus inattendus sont les résultats obtenus après l'emploi des sels mercuriques et de l'acétate de zinc: ils peuvent s'expliquer par une rétention particulière de l'amygdaline ou une action empêchante vis-à-vis de l'émulsine; cette dernière hypothèse est plus vraisemblable. Ce n'est pas le mercure qui peut jouer ce rôle, puisqu'on l'élimine; mais avec le sulfate mercurique le milieu est rendu très acide, de même avec l'acétate mercurique, et cette acidité peut nuire à l'émulsine dont l'optimum d'action se manifeste au voisinage de la neutralité. Le zinc semble avoir semblable action nuisible, comme le révèle l'essai suivant: à une solution de 0 gr. 20 d'amygdaline dans 20 cc. d'eau toluénée, nous avons ajouté 5 cc. de solution d'acétate de zinc au 1/10e, puis 0 gr. 075 d'émulsine et le mélange fut placé à l'étuve à 37° pendant 24 heures. Au bout de ce laps de temps, nous avons dosé le glucose libéré et trouvé 0,1135 p. 100, au lieu de 0,521 que nous avions obtenu en l'absence d'acétate de zinc, toutes choses égales d'ailleurs.

En ce qui concerne le réactif de PATEIN, des essais analogues à celui que nous venons de relater nous ont montré que divers facteurs inhibiteurs du ferment pourraient intervenir: présence d'azotate, de mercure incomplètement éliminé et de

zinc introduit pour éliminer le mercure ; mais, avant tout, il y a la forte alcalinité du milieu due à l'addition de lessive de soude pour redissoudre l'oxyde de zinc qui se précipite. On s'explique moins la disparition des sucres réducteurs existant avant l'addition du glucoside.

CHAPITRE VII

DOSAGE DU GLUCOSE DANS LE SANG

Nos essais ont porté sur un sang étendu de son volume d'une solution de fluorure de sodium à 4 p. 100, et additionné de glucose, soit:

250 cc. sang,
250 cc. eau fluorée,
0 gr. 75 glucose.

Ce mélange était conservé à la glacière.

Comme défécants, nous avons utilisé le réactif de PATEIN-DUFAU, le réactif citro-picrique d'ESBACH, le réactif de CARREZ (ferrocyanure double de potassium et de zinc) et le tungstate de soude en solution au 10°.

Des essais faits avec le sulfate mercurique et l'acide trichloracétique ne nous ont pas donné de bons résultats.

Défécation par le réactif de Patein-Dufau.

Voici la technique suivie:

Dans une fiole jaugée de 250 cc. on met: 50 cc. de sang fluoré (= 25 cc. sang pur), 100 cc. d'eau distillée et 25 cc. de réactif de PATEIN; on neutralise avec de la soude, le virage étant suivi à la touche à l'aide d'un papier de tournesol, et on

complète à 250 cc. avec de l'eau distillée. Après agitation, on centrifuge; le liquide surnageant est décanté et débarrassé de mercure au moyen de poudre de zinc comme il a été indiqué, puis filtré.

On mesure 200 cc. du filtrat (= 20 cc. Sang) que l'on évapore au B.M. pour l'amener très exactement à 50 cc. On prélève 20 cc. du filtrat ainsi réduit (ils correspondent à 8 cc. de sang) pour y doser le glucose selon la méthode de G. BERTRAND.

Défécation par le réactif de Carrez.

Nous avons employé le réactif de CARREZ en suivant la technique indiquée par THIERY:

Dans un verre à pied, on met 40 cc. de sang fluoré (= 20 cc. sang pur) et on ajoute goutte à goutte, en agitant avec une baguette de verre, 10 gouttes d'acide acétique, puis 8 cc. de solution de ferrocyanure de potassium à 15 p. 100, puis 8 cc. de solution d'acétate de zinc à 11,20 p. 100. On verse dans une fiole jaugée de 100 cc. et complète au traite de jauge avec de l'eau distillée servant à rincer le verre. On agite et filtre. On prélève 40 cc. du filtrat (= 8 cc. sang) que l'on évapore au B.M. à 20-25 cc., qui serviront au dosage du glucose selon la méthode de BERTRAND.

Défécation par le tungstate de soude.

Dans un verre à pied on met 40 cc. de sang fluoré et on ajoute peu à peu en agitant vivement, avec une baguette de verre, 20 cc. de solution de tungstate de soude à 10 p. 100, puis 15 gouttes d'acide sulfurique concentré.

On verse le tout dans une fiole jaugée de 100 cc. et complète au trait de jauge avec de l'eau distillée ayant servi à rincer le verre. On agite et centrifuge. On prélève 40 cc. du filtrat (= 8 cc. sang) que l'on évapore au B.M. à 20-25 cc. qui serviront au dosage du glucose.

Tableau VIII

Dosage du Sucre réducteur dans le sang fluoré glucosé

Défécants employés	Résultats	Observations
Réactif Patein-Dufau	0,262 gr. p. 100[1])	Filtrat incolore, limpide, demeurant tel par évaporation
Tungstate de soude	0,237 „ „ „	Filtrat incolore, limpide. Par évaporation abondant précipité brun-rougeâtre, le filtrat étant incolore et limpide
Ferrocyanure double de K et Zn	0,200 „ „ „	id.
Réactif d'Esbach	0,254 „ „ „	Filtrat jaunâtre, limpide

[1]) Quantité de Glucose ajoutée: 0,30 p. 100 (+ le glucose normal)

Défécation par le réactif d'Esbach.

A 30 cc. de sang fluoré on ajoute un volume égal du réactif citro-picrique, soit au total 60 cc. correspondant à 15 cc. de sang. Après agitation, on filtre et prélève 30 cc. du filtrat (= 7 cc. 5 sang) que l'on évapore à 20-25 cc. pour faire le dosage du glucose.

Les résultats obtenus sont réunis dans le Tableau VIII.

Indépendamment du glucose normal pouvant exister dans le sang (1 gr. à 1 gr. 50 par litre dans le sang humain), la quantité du glucose ajoutée était 0 gr. 30 pour 100 cc. de sang.

Après défécation par le réactif de PATEIN, on trouve 0 gr. 262, soit une perte minima (faisant abstraction du glucose normal) de 13 p. 100. Elle est sensiblement la même après défécation avec le réactif d'ESBACH, et atteint respectivement 21 et 23 p. 100 si l'on emploie comme défécants, le tungstate de soude et le ferrocyanure double de potassium et de zinc.

Ces divers défécants ont été préconisés pour la défécation du sang, mais la méthode de G. BERTRAND semble mal se prêter au dosage du sucre: elle nécessite des évaporations qui déterminent les coagulums pouvant retenir du glucose.

Le réactif de PATEIN-DUFAU semble le meilleur, il convient de se rappeler toutefois que les milieux sériques déféqués avec ce réactif ne présentent pas, vis-à-vis des liqueurs cuivriques, un indice de réduction superposable à celui de solutions aqueuses de glucose pour les concentrations inférieures à 2 gr. par litre. Si l'on veut opérer avec précision, il faut donc ramener la teneur en sucre de la solution essayé à 2 ou 3 gr. par litre au moyen d'une solution accessoire de sucre.

Mais en clinique, c'est maintenant la méthode de FOLIN-WU (défécation tungstique et dosage au colorimètre après action du réactif phospho-molybdo-tungstique) qui se recommande par la facilité de son exécution et sa précision suffisante.

CHAPITRE VIII

DOSAGE DES ACIDES AMINES

Les acides aminés possédent tous les groupements $CH-NH^2-COOH$ et fonctionnant comme acides en présence des bases énergiques, et comme bases en présence des acides forts.

Lorsqu'ils se trouvent en contact avec la formaldéhyde, il y a réaction et le groupement aminé se trouve bloqué:

$$R-CH-NH^2-COOH+HCOH=R-CH-N-CH^2-COOH+H^2O$$

Le dérivé méthylénique ainsi obtenu se comporte comme un acide énergique et peut être titré par un dosage acidimétrique en présence de phénolphtaléine.

SOERENSEN a utilisé cette réaction pour le dosage des acides aminés: c'est ce qu'il a appelé la formol-titration.

Solutions employées:

Solution de formol:

Formol	100 cc.
Sol. alcool. de phénolphtaléine à 1 %	1 cc.
Soude N/10: q. s. p. légère teinte rouge	

Liquide type de contrôle:

Eau dist. bouillie	10 cc.
Solution de formol ci-dessus	10 cc.
Soude N/10	3 cc.

Ac. sulfurique N/10 ajouté jusqu'à ce que le liquide ne présente plus qu'une teinte rose faible. On ajoute alors 4 gouttes de soude N/10 pour faire prendre à la solution la couleur rouge vif type.

Dosage.

Dans un vase on met:

Liquide à titrer ..... 10 cc.
Solution de formol ci-dessus ..... 10 cc.
Soude N/10 q. s. p. pour atteindre la couleur du liquide type de contrôle.

Chaque centicube de soude N/10 employée multiplié par le coefficient 1,4 donne la quantité d'azote en milligrammes.

Si l'on a affaire à un seul aminé et qu'on en connaisse la nature, il est aisé de calculer le poids de cet acide contenu dans la solution en essai. En effet, les quantités correspondantes à la liqueur alcaline déci-normale étant proportionnelles aux poids moléculaires, on a:

1 cc. NaOH N/10 correspond à 0 gr 75 Glycocolle
0 gr. 0089 Alanine
0 gr. 0131 Leucine
0 gr. 0165 Phénylalanine
0 gr. 0181 Tyrosine

Les acides aminés peuvent se trouver dans un liquide contenant des protéines qu'il convient d'éliminer. Nous avons recherché si la défécation d'un tel liquide entraîne des pertes d'acide aminé. Dans ce but nous avons fait une solution aqueuse de glycocolle à 1 gr. pour 150 cc. et avons dosé l'acide aminé par formol-titration dans 10 cc. de la solution. Nous avons ensuite dissous dans 100 cc. de cette solution 0 gr. 50 d'ovalbumine, et avons fait un nouveau dosage après défécation par le sous-acétate et l'acétate neutre le plomb ajoutés dans la proportion de 10 p. 100.

Tableau IX

Dosage d'un acide aminé (Glycocolle) dans un liquide albumineux

Défécants employés	Résultats	Observations
Néant (liquide non déféqué)	0,654 gr. p. 100 [1])	Filtrat limpide
Sous-Acétate de Pb	0,601 „ „ „	id.
Acétate neutre de Pb	0,611 „ „ „	id.

[1]) théoriquement: 0,666 gr. p. 100

Les défécants ont été ajoutés dans la proportion de 10 p. 100

Dans le filtrat, le plomb est éliminé au moyen de sulfate de soude pulvérisé: on vérifie que le filtrat ne se trouble plus par addition de quelques cristaux de sulfate de soude, et qu'il est rigoureusement neutre.

Les résultats de nos dosages sont réunis dans le Tableau IX.

La défécation par l'acétate neutre de plomb détermine une perte de 6,5 p. 100, qui s'élève à 8 p. 100 avec le sous-acétate.

CONCLUSIONS GENERALES

Un grand nombre de réactifs ont été indiqués pour déféquer les liquides dans lesquels on veut, en particulier, rechercher et doser des hydrates de carbone : sels de plomb, de mercure ou de zinc, ferrocyanures, tungstates, etc...

Certains d'ailleurs n'assurent que d'une façon imparfaite l'élimination des protides et la limpidité ou la décoloration du milieu, indispensables pour la rigueur du dosage par voie optique et nécessaires aussi, bien que d'une façon parfois moins absolue, pour la détermination du pouvoir réducteur. D'autre part, beaucoup d'entre eux entraînent, dans le précipité qu'ils provoquent, une quantité de corps à doser qui parfois est loin d'être négligeable, ou encore déterminent les perturbations fâcheuses pour le dosage.

Si l'on envisage l'action déféquante seule, les sels de mercure (acétate et sulfate mercuriques, réactif de Patein au nitrate de mercure) agissent en général mieux que les sels de plomb (acétate basique ou neutre), les sels de zinc (acétate de zinc), ou les ferrocyanures plus récemment préconisés (ferrocyanure double de potassium et de zinc, ferrocyanure de cuivre colloïdal). A ce point de vue, c'est le réactif de Patein-Dufau qui semble, dans tous les cas, donner le meilleur résultat, tant pour éliminer les protides que pour obtenir la décoloration et la limpidité désirables. (Toutefois l'élimination absolument parfaite des substances étrangères n'est pas toujours possible : on

sait, par exemple, que le lait de femme renferme une substance lévogyre non réductrice, ne précipitant pas, même par le réactif de Patein, et qui ne permet pas le dosage du lactose au polarimètre).

Quant aux pertes du corps à doser, résultat de la défécation, elles peuvent atteindre des taux élevés.

Ainsi dans une *urine* renfermant 6 à 7 gr. de glucose par litre, la défécation au moyen du sous-acétate de plomb ou du réactif de Patein cause une perte de glucose atteignant 15 p. 100; par contre, l'acétate neutre de plomb, le sulfate mercurique ainsi que l'acétate mercurique ne déterminent aucun entraînement du sucre.

Dans le *vin*, le dosage des sucres réducteurs s'effectue, selon la méthode officielle, avec le sous-acétate de plomb ajouté dans la proportion de 5 p. 100: la perte peut être de 8 à 16 p. 100 selon les vins; elle est plus grande encore avec le réactif de Patein. Et si, pour certains vins riches en extrait, on élève la proportion du défécant de 5 à 10 p. 100, l'erreur par défaut atteint 22 p. 100 avec le sous-acétate de plomb et 13 p. 100 avec l'acétate neutre. Le meilleur résultat est obtenu dans la défécation par le ferrocyanure de cuivre colloïdal qu'a préconisé Beltran.

Dans une *solution artificielle d'albumine et de glucose*, c'est encore le sous-acétate de plomb et le réactif de Patein qui déterminent la plus grande perte (— 13 p. 100), tandis que l'acétate et le sulfate mercuriques n'en produisent aucune.

Les recherches faites avec le *lait* nous ont montré que la méthode officielle de défécation au moyen de l'alcool acétique provoque, comme le sous-acétate de plomb d'ailleurs, une perte de lactose atteignant une erreur par défaut de 11 p. 100, comparativement aux résultats trouvés en employant comme défécants le réactif d'Esbach, le réactif de Carrez (ferrocyanure double de K et de Zn), le métaphosphate de soude ou l'acide phosphotungstique. Mais il y a plus: ayant ajouté à du lait 20 gr. de lactose par litre, nous n'en avons retrouvé que 15 gr. 80

par la méthode officielle (soit une erreur en moins de 23 p. 100) alors que la défécation au ferrocyanure de cuivre colloïdal laisse retrouver la totalité.

Quand il s'agit de déféquer un liquide extractif dans lequel on veut rechercher la présence d'un *glucoside* par la méthode biochimique de Bourquelot, en y dosant les sucres réducteurs avant et après addition de l'émulsine, le choix des défécants devient particulièrement limité à cause des actions empêchantes qu'ils peuvent exercer vis-à-vis de la diastase: le réactif de Patein, le sulfate mercurique et l'acétate de zinc sont à rejeter; seuls l'acétate neutre de plomb et l'acétate mercurique assurent de bons résultats.

Avec le *sang*, aucun des défécants employés (réactif de Patein, réactif d'Esbach, réactif de Carrez, tungstate de soude), parmi les nombreux préconisés, ne nous a donné des résultats satisfaisants: tous conduisent à des erreurs par défaut allant de 13 à 33 p. 100. Peut-être la méthode de G. Bertrand, que nous avons uniformément appliquée au dosage des sucres et qui dans le cas du sang nécessitent des évaporations déterminant des coagulums susceptibles de retenir du glucose, se prête-t-elle mal à ce dosage.

Enfin nous avons reconnu que la défécation par le sous-acétate et l'acétate neutre de plomb ajoutés à un liquide albuminé renfermant du *glycocolle* retient partie de cet acide aminé dans la proportion de 6 à 8 p. 100.

Au total, le sous-acétate de plomb, encore couramment usité, et indiqué même dans certaines méthodes officielles, peut, surtout dans les milieux complexes, entraîner des quantités notables de glucose. L'emploi du réactif de Patein, d'une technique un peu laborieuse d'ailleurs, ne s'est pas, dans nos recherches, montré recommandable: on sait que les sels mercuriques, en milieu alcalin, peuvent oxyder les sucres: de plus, lors de l'élimination du mercure par le zinc, il se produit toujours avec ce réactif, des traces de nitrites pouvant amener des perturbations dans le dosage.

C'est l'acétate neutre de plomb, l'acétate et le sulfate mercuriques qui exposent à moins de perte (réserve faite pour les glucosides), les deux derniers assurant d'autre part une défécation meilleure que le premier. Le ferrocyanure double de potassium et de zinc ainsi que le ferrocyanure de cuivre colloïdal ne paraissent pas entraîner de perte de sucre, mais avec ces réactifs la défécation du liquide n'est pas toujours parfaite.

Vu et bon à imprimer:

Strasbourg, le 20 juin 1934.

Le Président du Jury,

J. E. LOBSTEIN.

Vu et approuvé:

Strasbourg, le 21 juin 1934.

Le Doyen de la Faculté de Pharmacie,

J. E. LOBSTEIN.

Vu et permis d'imprimer:

Strasbourg, le 23 juin 1934.

Le Recteur de l'Académie, Président du Conseil de l'Université,

J. DRESCH.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

ADLE: Contribution à l'étude du dosage du lactose dans le lait. Thèse Fac. Sc. Nancy, 1931.

BANZIL ET BOYER: Sur le dosage du glucose dans le sang. Journ. Pharm. et Chim., 1917. T. 16, p. 171.

BELTRAN: Dosage des sucres dans les substances végétales. Ann. chim. anal. et chim. appl., 1932. T. 14, N. II, p. 58.

BERTRAND ET THOMAS: Guide pour les manipulations de chimie biologique. Dunod, édit., Paris, 1919.

BENEDICT ET OSTERBERG: Dosage du sucre dans l'urine normale. Jour. Pharm. et Chim., 1918. T. 18, p. 281.

BOURREY ET MARQUET: Traité d'analyse chimique. Doin, édit., Paris, 1908.

BOURQUELOT: Sur la composition de deux sucres bruts vendus sur les marchés de l'Inde. Journ. Pharm. et Chim., 1904. T. 20, page 193.

CAMMIDGE: Une méthode « perfectionnée » pour le dosage du sucre dans l'urine. Journ. Pharm. et Chim., 1917. T. 16, p. 149.

CLOGNE: De l'emploi du réactif phosphotungstique comme déféquant. Journ. Pharm. et Chim., 1917. T. 16, p. 326.

CRAMER: Nouveau procédé de recherche du sucre dans les urines. Journ. Pharm. et Chim., 1915. T. 12, p. 296.

DELABY: Les méthodes de Folin et Wu pour le dosage de l'azote non protéique, de l'urée, de la créatinine, de la créatine, de l'acide urique et du sucre dans le sang. Bull. Sc. Pharm., 1920, page 169.

DENIGES: Dosage très rapide du sucre du sang par réductimétrie. Journ. Pharm. et Chim., 1932. T. 27, p. 189.

— Précis de Chimie analytique. Maloine, édit., Paris, 1931. T. II, page 616.

— Dosage clinique du sucre hématique par colorimétrie et réductimétrie. Bull. Sc. Pharm., Bordeaux, 1923, p. 8.

DERRIEN ET FONTES: Chimie biologique médicale, p. 351. Baillière, édit., Paris, 1931.

EMERICH ET FAZEKAS: Sur le dosage du sucre dans le sang d'après Hagedorn. Journ. Pharm. et Chim., 1927. T. 6, p. 360.

FLEURY ET BOYELDIEU: Sur le choix du réactif déféquant pour le dosage du glucose urinaire. Journ. Pharm. et Chim. 1931. T. 14, page 168.

FOLIN ET DENIS: Dosage du lactose dans le lait. Journ. Pharm. et Chim., 1918. T. 18, p. 219.

FONTES ET THIVOLLE: Amélioration de la technique de défécation mercurielle du sang pour le dosage du glucose. Bull. Soc. Chim. biol., 1928. T. 10, n° 4, p. 581.

GAYON ET LABORDE: Manuels pratiques d'analyses chimiques, p. 166. Lib. Polytechnique Ch. Béranger, Paris, 1912.

GLASSMANN: Nouvelle méthode de dosage du glucose. Journ. Pharm. et Chim., 1907. T. 24, p. 277.

GRUNWALD: Caractérisation du sucre urinaire dans quatre cas de pentosurie. Journ. Pharm. et Chim., 1931. T. 14, p. 173.

GUERIN: Dosage du sucre de lait. Journ. Pharm. et Chim., 1908. T. 28, page 236.

HANES: Emploi de la méthode Hagedorn et Yensen pour le dosage de quantités moyennes de sucres réducteurs. Journ. Pharm. et Chim., 1930. T. 11, p. 78.

HERZFELD: Sur une méthode de dosage du sucre dans le sang. Journ. Pharm. et Chim., 1912. T. 5-6, p. 416.

JONESCO-MATIU: Sur le dosage des sucres réducteurs par la méthode ferrocyanique. Bull. Soc. Chim. Biol. 1928. T. 10, n° 2, p. 252.

KLING: Méthodes actuelles d'expertises chimiques. Dunod, édit., Paris, 1923. T. III.

LEPINE ET BOULUD: Le sucre virtuel du sang. Journ. Pharm. et Chim., 1910. T. 1-2, p. 145.

LEPRINCE ET LECOQ: Guide pratique d'analyses alimentaires et d'expertises chimiques usuelles. Vigot, édit., Paris, 1930, pages 580-1.

MARICO: Le dosage électrotétrimétrique du glucose à l'aide de l'iodomercurate potassique. Bull. Soc. Chim. Biol., 1930. T. 12, n° 12, p. 1366-1381, analysé dans Ann. Chim. An., 1931. T. 13, n° 7.

POULAR: Etude sur le dosage du sucre dans le sang. Arch. Méd. Belg., 1931-34, n° 2, p. 75-80, analysé dans Ann. Chim. An., 1931. T. 13, n° 7.

ROSENTHALER: Der Nachweis organischer Verbindungen, Stuttgart, 1923, p. 795.

RUINI: Recherche chimique et dosage du glucose dans l'urine par l'acide orthophénylpropionique. Journ. Pharm. et Chim., 1902. T. 15-16, p. 543.

SALKOWSKY: Sur le mode d'action du sulfate d'ammoniaque sur le lait et sur un nouveau procédé pour le dosage du sucre de lait. Journ. Pharm. et Chim., 1912. T. 5-6, p. 414.

SEMICHON ET FLANZY: Recherche sur la défécation des liquides sucrés par les sels mercuriques. Journ. Pharm. et Chim., 1927. T. 5, p. 498.

— Recherches sur la défécation des liquides sucrés par les sels mercuriques. Ann. Fals. et Fraud., 1926, p. 208.

SOMOGYI: Défécation du sang pour le dosage du sucre. Journ. Pharm. et Chim., 1931. T. 13, p. 269.

THIERY: Emploi du ferrocyanure double de Zn et K comme agent de défécation du sang. Journ. Pharm. et Chim., 1932. T. 25, page 209.

TOMPSETT: Le dosage du sucre sanguin. Journ. Pharm. et Chim., 1931. T. 14, p. 178.

WOKES: Le dosage de petites quantités de sucre réducteur dans l'urine. Journ. Pharm. et Chim., 1927. T. 6, p. 78.

WEST, SCHARLES ET PETERSON: Le dosage du sucre « vrai » dans le sang. Journ. Pharm. et Chim., 1930. T. 12, p. 35.

TABLE DES MATIÈRES

pages

Introduction 7

Chapitre I^er. — Défécants employés 9

Chapitre II. — Dosage du Glucose dans un liquide albumino-glucosé 16

Chapitre III. — Dosage du Glucose dans l'Urine 23

Chapitre IV. — Dosage des Sucres réducteurs dans le Vin 27

Chapitre V. — Dosage du Lactose dans le Lait 37

Chapitre VI. — Dosage du sucre réducteur fourni par un Glucoside dans une macération aqueuse de drogue .. 43

Chapitre VIII. — Dosage du Glucose dans le Sang 51

Chapitre VIII. — Dosage des Acides animés 55

Conclusions Générales 59

Index Bibliographique 63